UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

228

O. VERONA

Effetti di alcuni erbicidi selettivi sulla microflora, in particolare, del terreno

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTA' DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME VIII - (XLVI DALLA FONDAZIONE)
— 1948 —

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

228

O. VERONA

Effetti di alcuni erbicidi selettivi sulla microflora, in particolare, del terreno

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTA' DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME VIII - (XLVI DALLA FONDAZIONE)
— 1948 —

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

O'. VERONA

Effetti di alcuni erbicidi selettivi sulla microflora, in particolare, del terreno.

RIASSUNTO - È stata sperimentata l'azione di alcuni erbicidi selettivi a base di ormoni *(Agroxone, Extar-Sandoz, Borweed, Weedone)* sui microrganismi del suolo. In ricerche eseguite in pieno campo si è osservato che tali erbicidi, almeno nelle dosi comunemente impiegate, non abbassano la carica microbica del suolo, non hanno influenza sul numero degli Azotobatteri, non modificano il potere di ammonizzazione nè quello di nitrificazione.

Ricerche sono state eseguite anche su colture pure di microrganismi sperimentando peraltro con il solo *Weedone*. È emerso che la tollerabilità al composto è in funzione del mezzo nutritivo e che comunque maggiore tolleranza la presentano i lieviti e i batteri asporigeni ; meno resistenti si dimostrarono i funghi a micelio e, ancor meno, i batteri sporigeni.

Nei lieviti e nei batteri che dimostrarono svilupparsi in presenza di forti dosi di *Weedone* è stata avvertita l'insorgenza di alcune variazioni.

RÉSUMÉ - L'action de quelques herbicides ormoniques selectifs *(Agroxone, Extar-Sandoz, Barweed, Weedone)* sur les microorganismes du sol a été expérimentée. A la suite de recherches conduites en plein champ il a été observé que ces herbicides, du moins aux doses communément employées, n'abaissent pas la « charge » microbienne du sol, n'ont pas d'influence sur le nombre des Azotobactéries, et ne modifient ni le pouvoir d'ammonisation ni celui de nitrification.

On a conduit des recherches sur des cultures pures de microorganismes avec le " *Weedone* ". On a trouvé que la tolérance pour cette substance est en fonction du milieu de culture et que les levures et les bactéries asporogènes présentent une plus grande résistance que les champignons à mycelium et que les bactèries sporogènes.

Dans les cultures de levures et de bactéries qui se sont développées en présence de fortes doses de *Weedone* on a observé l'apparition de quelques variations.

SUMMARY - The effect of some selective hormone weedkillers *(Agroxone, Extar-Sandoz, Barweed, Weedone)* on soil microorganisms has been examined. It has been observed that these weedkillers, at least at the doses commonly used, do not depress the microbian « charge » of the soil, do not affect the number of Azotobacters, and do not modify the ammonisation nor the nitrification power.

Experiences have been carried out on pure cultures of microorganisms with *Weedone*. It appears that the tolerance to the compound depends on the culture media, and that yeasts

and non sporiferous bacteria are the most tolerant, while mycelium-fungi and sporiferous bacteria are the least.

In yeast and bacteria cultures which grew in presence of high doses of *Weedone*, the appearance of some variations has been noted.

ZUSAMMENFASSUNG - Die Wirkung durch Ormonen einiger Selektiver-Grasvernichter, ist auf die Mykroorganysmen des Bodens versucht worden *(Agroxone, Extar-Sandoz, Barweed, Weedone)*. In Versuchungen, welche auf vollen Boden ausgefuehrt worden sind, hat man gemerkt, dass sollche Grasvernichter, wenigstens in dem Quantum, welcher gevoehnlich gebraucht wird, keinen Einfluss auf die Zahl der Stickstoffbakterien haben. Sie aendern entweder die Macht des Ammoniums, noch dijenige der Salpeterbildung nicht.

Es sind ebenso Versuchungen auch auf reine Kulturen von Mykroorganysmen, gemacht worden, indem man uebrigens nur mit dem Weedone erprobt hat. Es ist bekannt, dass die Ertraeglichkeit an der Mischung, in Funktion des Naehrmittels ist, obgleich eine groessere Toleranz durch die Sauerteige und die Asporygienischen-Bakterien gegeben wird. Weniger haltbar beweisen sich die Misch-Pilzen, und noch weniger, die Sporygienischen-Bakterien.

In den Sauereteige und in den Bakterien, die sich zu entwikeln zeigen, und wo eine starke Dose Weedone besteht, sind einige Aenderungen vorgetreten.

Recenti studi eseguiti in America sopra gli effetti di composti antiparassitari a base di D. D. T. e di composti usati come erbicidi sui microrganismi del terreno, mi hanno suggerito l'idea di eseguire analoghe ricerche nei riguardi dei nuovi erbicidi selettivi a base di ormoni vegetali.

Tali ricerche sono state favorite dalla circostanza che già l'Istituto di Agronomia e Coltivazioni Erbacee di questa Facoltà aveva in prova preparati congeneri e precisamente l'*Agroxone* della Sol Plant di Milano, l'*Extar-Sandoz* della Sandoz di Basilea-Milano e il *Barweed* della New York Mercantile Company. A questi fu aggiunto il *Weedone*, preparato su brevetto americano dalla Rumianca e messo cortesemente a mia disposizione dall'Ispettore Tecnico della Casa, Dr. Giulio Bottai.

Gioverà, prima di tutto, riportare qualche notizia sopra l'uso pratico di tali composti.

L'*Agroxone* è un prodotto studiato e preparato dalla Plant Protection Ltd. di Londra. Ha azione selettiva; mentre, cioè, non disturba il frumento distrugge un grandissimo numero di male erbe. Si prepara in polvere e liquido. Liquido si applica diluito all'1 %. Di tale soluzione all'1 % occorrono 1000 litri per ettaro.

L'*Extar-Sandoz* è un composto a base di dinitrocresolo ed è attivo contro

le erbe infestanti dei cereali. Si impiega nelle quantità del 2 % in ragione di litri 800-1200 ad ettaro.

Il *Barweed* ha per principio attivo l'acido 2,4-diclorofenossiacetico. Si applica — nella dose tipo — alla diluizione dell'1,5 % (fino al 3 % nelle dosi forti) in ragione di litri 1750-2000 per ettaro.

Finalmente il *Weedone* è preparato dalla Rumianca su brevetto della American Chemical Paint Co. Si usa alla diluizione dell'1 % in ragione di litri 2000 per ettaro.

* * *

In America particolari ricerche sono state eseguite con il 2,4-D che è, come si è ricordato, il principio attivo del *Barweed*.

LEWIS e HAMMER (1) hanno trovato che tale composto applicato in dosi normali non determina notevoli effetti nè sui microbi del suolo nè su specie fitopatogene eventualmente presenti nel suolo stesso. Più recentemente CARLYLE e THORPE (2) saggiando gli effetti dei sali sodico e ammonico del 2-4-D sopra *Bact. radicicola* non hanno notato effetti inibitori dello sviluppo, almeno nella concentrazione dello 0,03 % corrispondente praticamente a 200 pound per acro.

Solo STEVENSON e MITCHELL (3) avevano notato che il 2,4-D o il suo sale sodico aggiunti in agar-patata glucosato in proporzione dello 0,02 % ritardavano lo sviluppo di quattro batteri mentre concentrazioni dello 0,08 % non manifestavano azione palese su tre differenti funghi (4).

Ultimamente WILSON e CHOUDHRI (5) — che già in precedenza si erano occupati degli effetti microbiologici nel terreno del DDT (6) — hanno sperimentato, sempre sui microbi del terreno, l'azione dell'esaclorobenzolo (1, 2, 3, 4, 5, 6-esaclorocicloesano) consigliato nella lotta contro i Vermi, trovando che

---

(1) - LEWIS R. W. e HAMMER C. L. - *The effect of 2,4-D on some microrganisms.* - Mich. Agr. Exp. Sta. Quart. Bul., **29**, *112*, 1946.

(2) - CARYLE R. E. e THORPE J. D. - *Some effects of ammonium and sodium 2,4-Dichlorophenoxyacetates on legumes and the Rhizobium bacteria.* - Amer. Soc. Agron. Jour., **39**, *929*, 1947.

(3) - STEVENSON E. C. e MITCHELL J. W. - *Bacteriostatic and bactericidial properties of 2,4, dichlorophenoxyacetic acid.* - Science, **101**, *642*, 1945.

(4) - Circa l'azione del 2,4-D e del suo sale sodico sulla vegetazione si veda, anche per la bibliografia: POMA TRECCANI C. - *Effetti del sale sodico del 2,4-Diclorofenossiacetico sulla produzione di pomodori zucchine e cocomeri.* - Ann. d. Sper. Agraria, N. S., **2**, *173*, 1948.

(5) - WILSON J. K. e CHOUDHRI R. S. - *The effect of benzene hexachloride on soil organisms.* - Jour. Agr. Res., **77**, *25*, 1948.

(6) - WILSON J. K. e CHOUDHRI R. S. - *Effect of DDT on certain microbiological processes in the soil.* - Jour. Econ. Ent., **39**, *537*, 1946.

esso non ha effetto sul numero complessivo dei microbi terricoli, mentre qualche effetto inibente esplica sugli Azotobatteri.

RICERCHE SU TERRENO DI CAMPO.

Per le nostre ricerche si è profittato, come è stato premesso, delle esperienze allestite dall'Istituto di Agronomia che molto cortesemente ha consentito che venissero prelevati campioni di terra nei lotti variamente trattati. Il terreno destinato a queste prove, in quel di S. Cataldo presso Pisa, è terreno tendenzialmente argilloso coltivato in precedenza a prato. I trattamenti, conformi le modalità suggerite dalle varie Case, furono eseguiti la sera del 12 aprile del c. a.

Naturalmente non è oggetto della presente Relazione riferire sui risultati agronomici conseguiti; è possibile tuttavia soggiungere — per cortese informazione del Dr. E. MOSCHINI dell'Istituto di Agronomia — che essi furono sufficientemente soddisfacienti specie nei riguardi del *Barweed* e del *Weedoné*.

Ora, a noi interessava solo accertare se e quali turbamenti si sarebbero verificati nell'assetto microbiologico del suolo a seguito dei trattamenti stessi sebbene avessimo avuto motivo di escludere, a priori, una loro qualsiasi azione in considerazione della forte diluizione con la quale i composti vengono somministrati, della limitata quantità distribuita ad ettaro e, sopratutto, per il fatto di venir trattenuti dalla vegetazione sopra la quale essi debbono agire ([1]).

Ad ogni modo fu semplice procedere a qualche controllo.

a) *Determinazione del numero dei microbi coltivabili.*

Con il metodo delle colture in piastra fu determinato il numero dei microbi per grammo di terra, coltivabili su agar-fagiuoli saccarosato effettuando le letture dopo 7 giorni di incubazione a 24-25^0 C. La conta fu eseguita — in terreno non trattato (controllo) e variamente trattato — dopo cinque e dopo quindici giorni dal trattamento. Risultò:

(1) - Infatti, se distribuiti nelle quantità consigliate, si tratta di impiegare 1000 litri di soluzione all'1 % per ettaro. Ne deriva che per un mq. la quantità impiegata è di cc. 100 (corrispondente ad 1 cc. di prodotto attivo), per la maggior parte trattenuta dalla vegetazione.

TAB. I - Numero di microbi per grammo di terra secca, in terreno naturale a frumento e in terreno a frumento trattato con vari erbicidi selettivi, sviluppatisi su piastre all'agar-fagiuoli saccarosato dopo 7 giorni a 24-25° C. (medie di tre determinazioni).

		Schizomic.	Attinomic.	Eumiceti	Totale
Dopo 5 giorni dal trattamento	*Controllo*	*1.046.600*	—	*27.000*	*1.073.000*
	Agroxone	1.080.000	1.000	42.000	1.123.000
	Extar-Sandoz	975.500	2.000	13 000	990.500
	Barweed	1.120.400	—	36.000	1.156.400
	Weedone	1.035.000	—	25.000	1.060.000
Dopo 15 giorni dal trattamento	*Controllo*	*1.370.200*	—	*15.000*	*1.385.200*
	Agroxone	1.240.000	—	28.000	1.268.000
	Extar-Sandoz	1.195.500	1.000	16.000	1.212.500
	Barweed	1.080.700	3.000	31.000	1.114.700
	Weedone	1.250,400	—	12.000	1,262.400

b) *Determinazione del numero di Azotobatteri.*

Analoga ricerca quantitativa fu eseguita per gli Azotobatteri repertandosi le cifre seguenti:

TAB. II - Numero di Azotobatteri per grammo di terra secca in terreno a frumento trattato con vari erbicidi selettivi:

	Controllo	Agroxone	Extar-S.	Barweed	Weedone
Dopo 5 giorni dal trattamento	67	61	73	65	62
Dopo 15 giorni dal trattamento	71	78	67	80	75

c) *Determinazione del potere di ammonizzazione.*

Dato che per questa ricerca esistono molti metodi gioverà ricordare che per avere idea di eventuali variazioni nel potere ammonizzante dei terreni trattati ci siamo limitati a dosare l'ammoniaca (per spostamento con magnesia) formatasi dopo quattro giorni di incubazione a 24-25° C. in una soluzione all'1,5 % di peptone Witte inoculata con stemperamento acquoso di terra. La soluzione usata fu 50 cc. e l'inoculo rappresentato da cc. 5 di stemperamento di 10 di terra in 100 di acqua. Dei 50 cc. ne furono distillati 10 pur riportando i risultati a 1000 di soluzione.

TAB. III - Gr. di NH_3 formatasi dopo 4 giorni di incubazione da una soluzione all'1,5 % di peptone (dati riferiti a 1000 di soluzione).

	Controllo	Agroxone	Extar-S.	Barweed	Weedone
Dopo 5 giorni dal trattamento	1.150	1.020	1.200	1.075	1.210
Dopo 15 giorni dal trattamento	1.035	1.140	1.110	1.120	1.180

d) *Determinazione del potere di nitrificazione.*

È stata una ricerca sommaria. Ci siamo cioè limitati ad inoculare in triplo, con gr. 1 di terra, cc. 50 di liquido di Omelianski costituito, come è noto, da acqua 1000, solfato ammonico 2, fosfato bipotassico 2, presente un eccesso di carbonato di magnesio. Dopo 25 giorni di coltura si sono ricercati qualitativamente i nitrati.

La reazione fu, *in ogni caso*, non molto intensa, ma *positiva*. Per quanto la reazione qualitativa potesse dire non si avvertirono differenze tra il terreno di controllo e gli altri terreni.

e) *Deduzioni.*

Con riferimento ai risultati delle indagini esperite e limitatamente alle condizioni sperimentali realizzate si può affermare come i trattamenti eseguiti su seminati di frumento con vari erbicidi selettivi non siano tali da provocare turbe al normale regime microbiologico del terreno non riscontrandosi variazioni nè sul numero degli Azotobatteri, nè sulle attività ammonizzante e nitrificante.

ESPERIENZE IN VITRO.

Per avere più precisa idea dell'eventuale potere batteriostatico dei ricordati composti sono state eseguite ricerche dirette, in vitro, su varie colture microbiche, utilizzando peraltro un solo preparato ed esattamente il *Weedone* disponendone di questo una certa quantità.

a) *Sviluppo di microbi dell'acqua e del terreno in agar contenente varie quantità di Weedone.*

È stato impiegato agar-fagiuoli saccarosato che al momento dell'uso si arricchiva di determinate e varie quantità di composto. Con tale agar venivano allestite piastre seminate con uguali quantità di acqua o di stemperamento acquoso di terra effettuando le letture dopo sette giorni di incubazione a 24-25° C.

TAB. IV - Numero di microbi sviluppatisi in piastre seminate con cc. 0,1 di acqua di fonte (1).

agar	*senza*	Weedone		372
»	*con*	Weedone	0.01 %	217
»	»	»	0.05 »	151
»	»	»	0.1 »	48
»	»	»	1 »	2

(1) - Medie di letture eseguite su tre piastre. Le cifre si riferiscono ai soli schizomiceti essendo stato assente lo sviluppo di attinomiceti e funghi.

TAB. V - Numero di microbi sviluppatisi in piastre seminate con cc. 0,l. dello stemperamento di terra 1 : acqua 1000.

	Schizomiceti	Attinomiceti	Eumiceti	Totale
agar *senza* Weedone	115	3	7	125
agar-Weedone 0.01 %	53	4	5	62
» » 0.05 »	21	2	3	26
» » 0.1 »	16	—	—	16
« « 1 »	7	—	2	9

b) *Sviluppo di colture pure di schizomiceti, lieviti e funghi a micelio in agar-Weedone.*

Fu usato agar-fagiuoli saccarosato prestandosi ugualmente bene allo sviluppo di tutti i ricordati gruppi microbici almeno nelle specie usate. Distribuito in tubi nella quantità di 10 cc., dopo sterilizzazione e prima che ne avvenisse la solidificazione, veniva aggiunto Weedone opportunamente diluito e ben omogeneizzato, nelle quantità corrispondenti a quelle segnate in Tabella VI; non fu ritenuto necessario sterilizzare ulteriormente ed anzi fu evitata di proposito la seconda sterilizzazione per non andare incontro a modificazioni di titolo od alterazioni nel composto. I tubi, una volta seminati, furono tenuti a temperatura ambiente (correndo il mese di agosto) e mantenuti almeno quindici giorni. Lo sviluppo fu apprezzato soggettivamente e comparativamente e annotato con numeri che indicano: 5 massimo (corrispondente al controllo); 4 buono; 3 discreto; 2 scarso; 1 scarsissimo; 0 nullo. I risultati figurano nella Tabella VI.

Limitatamente alle specie sperimentate i risultati conseguiti indicano che il composto attivo del Weedone incomincia a far sentire la sua azione inibente, in rapporto al mezzo usato, solo nella concentrazione dello 0.1 %. Nelle più alte concentrazioni pari all' 1 % si nota che, mentre esse sono abbastanza bene tollerate dai lieviti, non così lo sono dai funghi a micelio e, quasi affatto, dagli schizomiceti.

Qualche osservazione di dettaglio ci ha portato a notare quanto segue.

Negli schizomiceti si sono dimostrate più tolleranti le due specie asporigene *(Bact. coli* e *Bact. tumefaciens)* che non le sporigene; nessuna delle cinque specie sporigene sperimentate ha dimostrato di svilupparsi in presenza di Weedone 1 % e anche in presenza dello 0.1 % lo sviluppo non sempre è

TAB. VI - Sviluppo di alcune specie microbiche in agar contenente quantità diverse di Weedone:

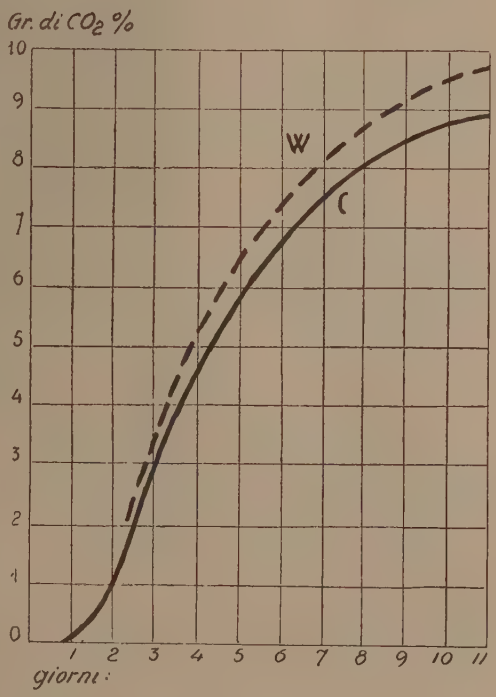
	Controllo	Weedone %: 0.0001	0.001	0.01	0.1	1
Schizomiceti						
Bact. coli	5	5	5	5	5	5
» tumefaciens	5	5	5	5	5	4-5
Bac. subtilis	5	5	5	5	3-4	0
» asterosporus	5	5	5	4	3-4	0
» petasites	5	5	5	5	4	0
» robur	5	5	5	4	3	0
» vulgatus	5	5	5	5	5	0
Lieviti						
Sacch. ellipsoideus	5	5	5	5	5	4-5
Torulaspora Rosei	5	5	5	5	5	5
Debaryom. tyrocola	5	5	5	5	5	5
» Guilliermondii	5	5	5	5	5	5
Rhodotorula mucillaginosa	5	5	5	5	5	5
Brettanom. bruxellensis	5	5	5	5	5	4
Candida pulcherrima	5	5	5	5	5	5
Funghi a micelio						
Aspergillus niger	5	5	5	5	4	3
Trichothecium roseum	5	5	5	5	4	3
Pen. crustosum	5	5	5	5	5	4
» notatum	5	5	5	5	4	3-4
» javanicum	5	5	5	5	4	4
» roqueforiti	5	5	5	5	5	3
Mucor racemosus	5	5	5	4	3	2-3
Botrytis cinerea	5	5	5	5	5	2
Chaetomium globosus	5	5	4	4	3	0
» bostricodes	5	5	5	4	3-5	1
Stemphylium pyriforme	5	5	5	5	4	2-3
Spicaria sp.	5	5	5	5	5	4

stato considerevole. Peraltro, nelle specie asporigene, si è verificato qualche fatto dissociativo, come del resto nelle sporigene in corrispondenza delle dosi limiti di sviluppo.

Nei lieviti non è stato rilevato nulla di molto particolare. Si è solo avvertita una maggiore pigmentazione in *Rhodotorula mucilaginosa* e, specie nei

tubi contenente Weedone 1 %, in *Candida pulcherrima* rimasta incolora nel controllo e nei tubi 0.0001 - 0.001 - 0.01. In *Brettanomyces bruxellensis* la patina, presente Weedone 1 %, si è presentata liscia e leggermente pigmentata in bruno chiaro, essendo bianca e densamente plicata negli altri casi.

Nel dubbio che qualche modificazione più profonda potesse determinarsi, se non nelle patine di primo innesto, attraverso ripetuti passaggi, abbiamo coltivato per circa due mesi in agar-Weedone 1 %, con trapianti settimanali, *Sacch. ellipsoideus* determinandone alfine l'attività fermentativa in confronto con lo stesso ceppo coltivato in agar normale. Tale attività fermentativa fu determinata dosando, giornalmente, l'anidride carbonica sviluppatasi da una soluzione zuccherina inoculata con i due ceppi (1). L'esperienza fu eseguita in doppio e la media dei risultati conseguiti ha consentito di tracciare le due curve di figura. Esse indicano che si è determinata qualche leggera differenza di comportamento nell'attività fermentativa dei due ceppi apparendo un poco più attivo il ceppo ripetutamente coltivato in presenza di Weedone 1 %.



Curve di fermentazione di *Sacch. ellipsoideus* in un ceppo normale (C) e in un ceppo proveniente da coltura ripetutamente trattata con Weedone 1 % (W).

Nei riguardi dei funghi a micelio tutte le specie sperimentate si sono dimostrate relativamente sensibili di fronte alle quantità dell'1 % di Weedone; appena più resistenti si sono dimostrati i Penicilli e affatto le due specie di *Chaetomium*. In ogni caso alla limitazione di sviluppo corrispondeva una riduzione della fruttificazione.

(1) - Fu impiegato acqua di lievito con saccarosio 20 % e ac. tartarico 3.5 ‰. Previa completa inversione del saccarosio il liquido, distribuito in ragione di 100 cc. in matracci muniti di tappo con valvola ad ac. solforico e sterilizzato, fu seminato con uguali quantità di lievito.

c) *Influenza del Weedone sullo sviluppo di alcuni funghi in colture liquide.*

È noto come in molti casi gli effetti di un determinato composto siano in rapporto non solo alla composizione, ma anche alla natura del mezzo nel quale esso è portato ad agire. Pertanto ci è sembrato utile, a complemento delle ricerche riferite, saggiare lo sviluppo di un limitato numero di funghi in liquido di CZAPEK (1) contenente quantità varie di Weedone. Allorquando il controllo dimostrò di aver raggiunto un notevole sviluppo (15-20 giorni) si procedette alla raccolta delle membrane che, essiccate a 110° C., furono pesate notandosi:

TAB. VII - Peso, in mgr., del corpo micelico di alcuni funghi coltivati in liquido di CZAPEK contenente Weedone.

	Controllo	Weedone %					
		0.0001	0.001	0.01	0.1	0.5	1
Aspergillus niger	157	162	140	96	15	tr.	—
Penicillium crust.	130	110	127	38	tr.	—	—
Trichothec. roseum	105	116	101	20	tr.	—	—
Botrytis cinerea	118	110	95	27	tr.	—	—

Se si confrontano questi risultati con quelli di Tab. VI si osserva la notevole influenza esercitata dalla natura del mezzo sull'azione esercitata dal Weedone la cui presenza, nelle colture in mezzo liquido, è sentita già, sensibilmente, nella quantità dello 0.01 %.

CONCLUSIONI.

È stata sperimentata l'azione di alcuni erbicidi selettivi a base di ormoni vegetali sintetici *(Agroxone, Extar-Sandoz, Barweed, Weedone)* sui microrganismi del suolo. In ricerche eseguite in terra di pieno campo si è osservato che tali erbicidi, almeno nelle dosi comunemente impiegate, non abbassano la

(1) - Acqua 1000, nitrato di sodio 2, fosfato monopotassico 1, cloruro di potassio 0.5, solfato di magnesio 0.5, solfato ferroso 0.01, saccarosio 30. Nelle riferite ricerche è stato sostituito il nitrato di sodio con il nitrato di ammonio.

carica microbica del suolo, non hanno influenza sul numero degli Azotobatteri, non modificano il potere di ammonizzazione nè quello di nitrificazione. Tali erbicidi non producono quindi nessun turbamento nel regime microrganico del terreno, almeno nelle quantità usate e nelle modalità sperimentali realizzate. Ciò si deve anche relazionare al fatto che le quantità di composto attivo che si usano nei trattamenti o che comunque pervengono al terreno sono molto basse mentre il prodotto, in gran parte, viene trattenuto dalla vegetazione.

Sperimentando in vitro col solo *Weedone* aggiunto in quantità diverse all'agar è stato osservato che sui comuni microbi del terreno e dell'acqua il composto esercita una certa azione batteriostatica a partire dalla concentrazione dello 0.01 % per rendersi poi ben manifesta nella concentrazione dell'1 %. Sperimentando con colture pure di batteri, lieviti e funghi a micelio e usando come substrato di coltura agar, di fronte al *Weedone* si sono dimostrati resistenti più di ogni altro gruppo i lieviti che hanno tollerato bene il composto anche nelle quantità dell'1 %; meno bene di fronte a tali quantità hanno resistito i funghi a micelio apparendo rallentato e diminuito (a volte fortemente) il loro sviluppo che è stato inferiore ai controlli, per alcune specie, anche in presenza dello 0.1 % di composto. Nei riguardi degli schizomiceti si è osservato che nessuna specie sporigena, di quelle sperimentate, si è sviluppata in agar 1 % di Weedone, mentre pari ai controlli in presenza di tali quantità si sono sviluppate due specie asporigene (*Bact. coli* e *Bact. tumefaciens*).

La tollerabilità alle più forti dosi del composto si è visto che è relativa alla natura del mezzo; infatti, aggiungendo il composto anzichè ad un mezzo solido (agar) ad un mezzo liquido e sperimentando con alcune specie di funghi questi hanno risentito della presenza del composto già nelle concentrazioni dello 0.01 %.

Nei lieviti e nei batteri che si sono sviluppati in presenza di forti dosi di *Weedone* è stata avvertita l'insorgenza di alcune variazioni.

Istituto di Patologia Vegetale
e Microbiologia Agraria e Tecnica